

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-308979

(43) 公開日 平成5年(1993)11月22日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 P 7/64		8114-4B		
A 2 3 K 1/16	3 0 4 B	9123-2B		
// (C 1 2 P 7/64				
C 1 2 R 1:785)				

審査請求 未請求 請求項の数3(全7頁)

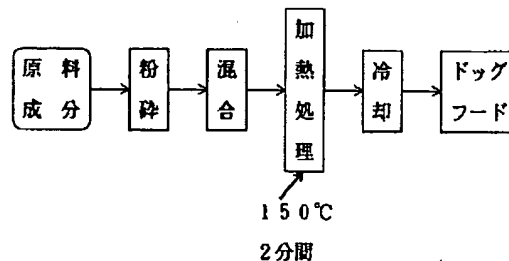
(21) 出願番号	特願平4-137590	(71) 出願人	000183657 出光石油化学株式会社 東京都千代田区丸の内3丁目1番1号
(22) 出願日	平成4年(1992)5月1日	(72) 発明者	青山 倫也 東京都千代田区丸の内3丁目1番1号 出光石油化学株式会社内
		(72) 発明者	佐野 敏郎 千葉県袖ヶ浦市上泉1660番地 出光石油化学株式会社内
		(72) 発明者	東田 雅彦 千葉県袖ヶ浦市上泉1660番地 出光石油化学株式会社内
		(74) 代理人	弁理士 久保田 藤郎 (外1名)

(54) 【発明の名称】 トリグリセリド含有乾燥菌体破砕物とその製造法

(57) 【要約】

【構成】 150℃で2分間の加熱処理後の多価不飽和脂肪酸含有量の減少率が10重量%以下であるトリグリセリド含有乾燥菌体破砕物並びに該トリグリセリド含有微生物菌体が水に分散した状態で該菌体を破砕し、次いで脱水することを特徴とするトリグリセリド含有乾燥菌体破砕物の製造法。

【効果】 本発明によれば、トリグリセリド含有乾燥菌体を水に分散した状態で破砕し、次いで脱水することにより、該菌体の乾燥破砕物を得ることができる。このものは150℃で2分間の加熱処理後のトリグリセリド含有量の減少率が10重量%以下であるという特性を有しており、貯蔵安定性に優れ、加工時の加熱処理に対しても安定である。したがって、嗜好性の良い動物用飼料、ペットフード等の製造に有用である。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 150℃で2分間の加熱処理後の多価不飽和脂肪酸含有量の減少率が10重量%以下であるトリグリセリド含有乾燥菌体破砕物。

【請求項2】 請求項1記載の菌体破砕物を含む飼料用組成物。

【請求項3】 トリグリセリド含有微生物菌体が水に分散した状態で該菌体を破砕し、次いで脱水することを特徴とするトリグリセリド含有乾燥菌体破砕物の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、トリグリセリド含有乾燥菌体破砕物とその製造法に関し、該乾燥菌体破砕物は畜産用飼料、ペットフードなどとして有用である。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】 γ-リノレン酸 (GLA)、ジホモ-γ-リノレン酸 (DGLA)、アラキドン酸 (AA)、エイコサペンタエン酸 (EPA) などの多価不飽和脂肪酸を生産する能力を有する微生物として、糸状菌や酵母などがあり、これら微生物を動物の飼料として用いることは既に知られている (例えば特開昭61-149054号、特開昭63-98355号、特開平1-215245号、英国特許第214442号明細書等)。

【0003】 トリグリセリドなどの多価不飽和脂肪酸を含む油脂は微生物菌体内に蓄積するため、これらを利用するには菌体から直接、或いは細胞壁を機械的又は酵素的に破壊し、抽出する必要がある。このような技術として、例えば微生物菌体をエタノールに懸濁し、破砕後、濾過、遠心分離によってエタノールを除いた後、これに抽出溶剤を加えて懸濁し、破砕抽出する方法がある (特開昭61-170397号、同61-227790号、同62-44170号、同62-179598号など)。

【0004】 しかしながら、これらの方法では、2種の溶媒を使用する上、菌体と有機溶剤との分離操作が必要となり、操作が煩雑であるという欠点があった。しかも、火災の恐れがあったり、過大な設備を必要とする等の問題があった。

【0005】 その上、多価不飽和脂肪酸は空気中の酸素と接触すると、反応して過酸化物を生じ易い。このため、貯蔵期間中あるいは造粒時の加熱処理の際に有効成分である多価不飽和脂肪酸含有量の低下をもたらす。さらには、過酸化物およびその分解生成物により異臭が発生して、嗜好性が悪くなるという問題がある。

【0006】 本発明の目的は、多価不飽和脂肪酸を含むトリグリセリドを含有する微生物菌体を畜産用飼料、ペットフードなどとして利用するにあたり、上記した欠点を解消し、かつ加熱処理による該多価不飽和脂肪酸含有量の低下を防止する方法を提供することである。

【0007】

【課題を解決するための手段】 本発明は、150℃で2分間の加熱処理後の多価不飽和脂肪酸含有量の減少率が10重量%以下であるトリグリセリド含有乾燥菌体破砕物を提供すると共に、該菌体破砕物を含む飼料用組成物並びにトリグリセリド含有微生物菌体が水に分散した状態で該菌体を破砕し、次いで脱水することを特徴とするトリグリセリド含有乾燥菌体破砕物の製造法を提供するものである。

10 【0008】 本発明に用いるトリグリセリド含有微生物菌体は、トリグリセリド生産能を有する微生物を常法により培養して得られるものである。ここでトリグリセリド生産能を有する微生物としては、前述したように、糸状菌や酵母、藻類など種々のものが挙げられる。

【0009】 例えばγ-リノレン酸含有油脂生産能を有する微生物としては、特開昭60-168391号公報等に記載されているモルティエラ (*Mortierella*) 属に属する微生物、特開昭63-283589号公報等に記載されているムコール (*Mucor*) 属に属する微生物、特開昭63-133994号公報等に記載されているリゾプス (*Rhizopus*) 属に属する微生物などが挙げられる。

【0010】 また、ジホモ-γ-リノレン酸含有油脂及びアラキドン酸含有油脂の生産能を有する微生物としては、例えば特開昭63-14696号公報、同63-12290号公報、同63-44891号公報等に記載されているモルティエラ (*Mortierella*) 属に属する微生物、特開昭64-47384号公報、同64-47385号公報、同63-102688号公報等に記載されているコニディオボラス (*Conidiobolus*) 属に属する微生物などが挙げられる。

30 【0011】 より具体的には、モルティエラ (*Mortierella*) 属に属する微生物としては、例えばモルティエラ・イサベリナ (*Mortierella isabellina*) IFO7824やモルティエラ・ラマニアナ (*Mortierella ramaniana* var. *angrispora*) IFO8187などが挙げられる。

【0012】 また、ムコール (*Mucor*) 属に属する微生物としては、例えばムコール・シルシネロイデス (*Mucor circinelloides*) HUT1121 (FERM P-9359) やムコール・ジャバニクス (*Mucor javanicus*) HUT1162 (FERM P-9360) などが挙げられる。

【0013】 さらに、コニディオボラス (*Conidiobolus*) 属に属する微生物としては、例えばコニディオボラス・ヘテロスボラス (*Conidiobolus heterosporus*) ATCC12941、コニディオボラス・ナノデス (*Conidiobolus nanodes*) CBS183/62、コニディオボラス・ランブラウジェス (*Conidiobolus lamprauges*) ATCC12585などが挙げられる。これらは、いずれも油脂

50 (トリグリセリド) を生産する能力を有し、菌体内に蓄

3

量の油脂(トリグリセリド)を蓄積することができる。

【0014】このような微生物の培養は、常法により行えばよい。すなわち、上記微生物を培養するための培地としては、該微生物がよく育成して目的とする油脂(トリグリセリド)を生産しうるものであればよく、例えば炭素源としてグルコース、澱粉等を用い、窒素源として硫酸、尿素の他、脱脂大豆粉、脱脂米糠などの有機窒素源を用いたものが挙げられる。その他、必要に応じてリン酸塩、マグネシウム塩、マンガン塩、カルシウム塩などの金属塩を添加したり、ビタミン、アミノ酸なども添加することができる。

【0015】また、培養時のpH、温度、時間などは目的とする油脂(トリグリセリド)が十分に蓄積するように適切に制御しながら培養すればよい。

【0016】トリグリセリドは通常、微生物菌体中に蓄積されるので、微生物の培養終了後、培養液から濾過や遠心分離などの固-液分離操作によって菌体を回収する。本発明の方法においては、回収した菌体が水に分散した状態で、該菌体を破碎する。具体的には、回収した菌体を再度、水に分散・懸濁させながら、或いは水に分散・懸濁させた後、該菌体を破碎する。

【0017】菌体を水へ分散・懸濁するときには、菌体の濃度は高い方がよいが、ポンプによる移送時の流動性を考慮し、菌体の濃度を5~18重量%、望ましくは8~15重量%に調整する。また、破碎機などを用いて行う菌体の破碎工程での目詰りを防止するために、予めデイスパーミル等の分散機を用いて荒破碎を行うことが望ましい。なお、培養液中の菌体濃度が十分に高く、また後工程及び製品中に混入する等のトラブルを生じるような副産物が培養液に含まれていない場合には、菌体を分離することなく、直接破碎機に供給することもできる。

【0018】菌体の破碎は、通常機械的に行われ、例えばフレンチプレス、超音波破碎機等を用いたり、或いはガラスビーズの存在下でホモジナイズしたり、さらにはボールミルを用いたりすることにより行うことができる。

【0019】菌体の分散・懸濁~破碎を連続的に行うには、一般に乳化、微粉末懸濁液の均質化に用いられている高圧ホモジナイザー型式のものが有効である。また、ダイノミル、パールミル(いずれも商品名)等も使用することができる。

【0020】なお、水の代りに懸濁液の温度が50~80℃となるように、温水に懸濁させて、微生物が持つリパーゼを失活させてもよい。これによって、破碎後、乾

4

燥までに起こる、リパーゼによるトリグリセリドの分解を防止し、油脂の酸価の上昇を防止することが可能である。

【0021】次に、このようにして破碎した菌体を脱水する。ここで脱水は、菌体の含水率が10重量%以下、好ましくは5重量%以下になるように行えばよく、菌体の含水率が0%となるまで、すなわち完全に乾燥するまで行う必要は必ずしもない。この脱水は、凍結乾燥機、真空乾燥機、気流乾燥機等の他スプレードライヤー、パドルドライヤー、ドラムドライヤー等を用いて行えばよい。

【0022】上記の如くして得られる本発明のトリグリセリド含有乾燥菌体破碎物は、150℃で2分間の加熱処理後の多価不飽和脂肪酸減少率が10重量%以下である。ここで、多価不飽和脂肪酸減少率が10%以上であるものは、菌体破碎物が不安定で、劣化し易いため、飼料として不適当である。また、過酸物価(POV)が10以下であることが望ましい。POVが10を超えると、嗜好性が劣ることとなる。

【0023】上記の性質を有する本発明のトリグリセリド含有乾燥菌体破碎物を飼料に用いる場合、通常の飼料素材、例えば穀類、雑穀類、糟糠類、ビタミン類、ミネラル類などと配合すればよい。トリグリセリド含有乾燥菌体破碎物と飼料素材との配合割合は特に制限がなく、使用目的を考慮して適宜決定すればよいが、通常は該乾燥菌体破碎物が0.001~100重量%、好ましくは0.01~20重量%となるように配合すればよい。

【0024】トリグリセリド含有乾燥菌体破碎物を含む飼料組成物は、所定量の各成分を配合後、要すれば加熱し、混練したのち、粉末、ペレット、錠剤など所望の形態に調製する。

【0025】

【実施例】次に、本発明を実施例により詳しく説明する。

製造例1

ムコール・シルシネロイデス(*Mucor circinelloides*) HUT1121 (FERM P-9359)の菌体を、第1表に示す培地および培養条件下、300リットルの培養槽で5日間培養し、大量の菌体を得た。培養終了後、培養液を濾過して菌体を回収した。この回収菌体を、水に均一分散、懸濁させて菌体濃度12%の懸濁液を作成した。

【0026】

【表1】

第1表 培養槽の培地条件(油脂生産用)

グルコース	250 g
硫酸アンモニウム	16.5 g
リン酸一カリウム	9.0 g
硫酸マグネシウム・7水塩	1.0 g
酵母エキス	0.6 g
硫酸第一鉄・7水塩	40 mg
塩化カルシウム・2水塩	4.8 mg
硫酸銅・5水塩	0.8 mg
硫酸亜鉛・7水塩	3.5 mg
塩化マンガン・4水塩	4.0 mg
消泡剤「CC-118」	0.6 g (初発)
脱イオン水	1 リットル

pH 5.0, 30℃

【0027】次いで、高圧ホモジナイザー（イズミフールドマシナリ社製、HV-OH-0.7, 7-3, 7S）を用いて、圧力700kg/cm²、60リットル/時の条件で連続的に破砕した。得られた破砕菌体をダブルドラムドライヤーを用いて脱水、乾燥し、含水率3.8%の乾燥菌体粉末約12kgを得た。この菌体粉末をアルカリ加水分解して得た試料についてガスクロマトグラフィーにより分析したところ、この菌体粉末中には73.4g/kgのγ-リノレン酸が含まれていた。また、n-ヘキサンを用いて該菌体粉末より抽出した油脂について、基準油脂分析試験法（社団法人 日本油化学協会制定）に準じてPOVを測定したところ、POVは0.9であった。

【0028】製造例2

製造例1と同様にムコール・シルシネロイデス(*Mucor circinelloides*) HUT1121 (FERM P-9359) を培養し、培養物から濾過によって菌体を回収した。この回収菌体を水に均一に分散、懸濁させて菌体濃度12%の懸濁液を作成したのち、ダブルドラムドライ

ヤーを用いて脱水、乾燥して含水率4.0%の乾燥菌体粉末約12kgを得た。

【0029】この乾燥菌体粉末について製造例1と同様にして測定したところ、この菌体粉末中には74.2g/kgのγ-リノレン酸が含まれていた。また、n-ヘキサンを用いて行ったPOVの測定では、菌体粉末より抽出した油脂のPOV値は0.9であった。

【0030】試験例1

上記製造例1, 2で得たγ-リノレン酸含有菌体について自動酸化に対する安定性を試験した。すなわち、製造例1, 2で得た菌体を直径9cm、深さ1.5cmのシャーレに5gずつ入れたものを各々4個用意し、これを温度40℃、湿度50%の恒温恒湿槽に入れ、10日毎に夫々1個ずつ取り出し、製造例1に記載の方法によりγ-リノレン酸含有量を測定した。結果を第2表に示す。

【0031】

【表2】

第2表 γ -リノレン酸含有菌体保存中の γ -リノレン酸含量変化

保存日数 (日)	γ -リノレン酸含量 (g/kg)	
	製造例1 菌体	製造例2 菌体
0	73.4	74.2
10	73.0	68.3
20	72.1	60.1
30	73.1	53.4
40	71.9	53.1

【0032】表から明らかなように、製造例2の菌体は40日後に γ -リノレン酸の含有量が30重量%減少し、異臭が強くなった。一方、製造例1の菌体は40日経過後も γ -リノレン酸含有量に変化なく、異臭も殆ど感じられなかった。

【0033】試験例2

製造例1、2で得た γ -リノレン酸含有菌体を用いてド*

* ッグフード製造する過程における γ -リノレン酸含有量の変化について調べた。すなわち、製造例1、2で得た菌体の各2.5kgを用いて、第3表に示す配合処方に従ってドライタイプドッグフードを作成した。

【0034】

20 【表3】

第3表 ドライタイプドッグフード配合処方

トウモロコシ	49.1 wt%
グルテンフィード	19.0
肉 骨 粉	19.0
大 豆 粕	7.0
動 物 油 脂	2.5
γ -リノレン酸含有菌体	2.5
ミネラルミックス	0.8
ビタミンミックス	0.1

計

100.0

【0035】第1図はドッグフードの製造プロセスの概略を示したものである。加熱処理工程において原料は150℃の高温にさらされ、この工程で γ -リノレン酸が劣化する。そこで、加熱処理工程前後にサンプリングを

行いドッグフード中の γ -リノレン酸含有量を測定した。結果を第4表に示す。

【0036】

【表4】

第4表 ドライタイプドッグフード製造プロセス
における γ -リノレン酸含量変化

製造例1 菌体		製造例2 菌体	
加熱処理前	加熱処理後	加熱処理前	加熱処理後
1.84	1.80	1.86	1.49

γ -リノレン酸含量: g/kg ドッグフード

【0037】表から明らかなように、製造例1の菌体を用いて作成した場合は、加熱処理工程の前後で γ -リノレン酸含量に変化は認められなかった。しかし、製造例2の菌体を用いた場合は、 γ -リノレン酸含量が約20重量%減少した。

【0038】試験例3

製造例1, 2で得た γ -リノレン酸含有菌体の各5kgをポリエチレン製の袋に入れ、25℃で1ヶ月間保存した後、脂漏性症候群と診断された犬に投与し、嗜好性と治癒効果を調べた。1ヶ月間保存した菌体中の γ -リノ*

*レン酸含量については製造例1, 2のいずれの菌体も変化はなかったが、該菌体から抽出した油脂のPOVは、それぞれ7.5および114.4に上昇していた。

【0039】脂漏性症候群と診断された体重5~6kgの犬20匹を1群とし、1日当たり1gまたは2gの各菌体をミルクに懸濁して自由に摂取させた。20日間毎日投与し、目視にて嗜好性と治癒効果を見た。結果を第5表に示す。

【0040】

【表5】

第5表 γ -リノレン酸含有菌体の嗜好性および犬脂漏性症候群
に対する治癒効果

① 製造例1 菌体

投与量	摂 取 状 況			治 癒 効 果		
	良好	普通	不良	良好	普通	不良
1.0	15	5	0	18	2	0
2.0	16	4	0	18	2	0

② 製造例2 菌体

投与量	摂 取 状 況			治 癒 効 果		
	良好	普通	不良	良好	普通	不良
1.0	10	3	7	9	5	6
2.0	9	3	8	7	7	6

投与量: g・菌体/日/匹に換算

【0041】表から明らかなように、製造例1の菌体を投与した場合は、全般的に好んで摂取し、拒否をする犬はいなかった。また、治癒効果も良好であった。これに対して、製造例2の菌体を投与した場合は、4割の犬が摂取拒否を示し、これに相応して治癒効果が低下した。

【0042】

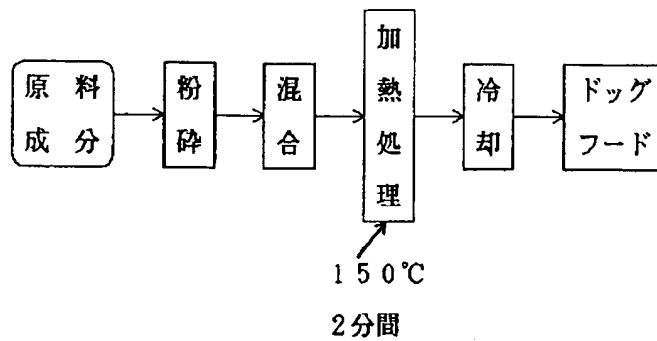
【発明の効果】本発明によれば、トリグリセリド含有乾燥菌体を水に分散した状態で破碎し、次いで脱水することにより、該菌体の乾燥破碎物を得ることができる。このものは150℃で2分間の加熱処理後のトリグリセリ

ド含有量の減少率が10重量%以下であるという特性を有しており、貯蔵安定性に優れ、加工時の加熱処理に対しても安定である。したがって、嗜好性の良い動物用飼料、ペットフード等の製造に有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】第1図はドッグフードの製造プロセスの概略を示したものである。

【図1】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.